

- 1 -



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA

FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E NATURALI

Corso di Laurea in Scienze Biologiche

CARATTERIZZAZIONE FARMACOLOGICA DEL POTENZIALE AGENTE ANTIPSICOTICO S33138 SUI SOTTOTIPI RECETTORIALI DOPAMINERGICI D₂-LIKE.

RELATORE

Prof. Franco Giorgi

CANDIDATA

Silvia Buggea

a.a. 2006-2007

INDICE

INDICE.....	2
ABBREVIAZIONI.....	4
ABSTRACT.....	5
RIASSUNTO.....	7
SCOPO DELLA TESI.....	9
1 - INTRODUZIONE.....	10
1.1 - Dopamina	10
1.2 - Recettori accoppiati a proteine G: Struttura.....	12
1.3 - Recettori accoppiati a proteine G: trasduzione del segnale	15
1.4 - Recettori dopaminergici.....	18
1.4.1 - I Recettori D ₁ -like	20
1.4.2 - I Recettori D ₂ -like	22
1.5 - Dimerizzazione dei recettori accoppiati a proteine G.....	27
1.6 - Evidenze di dimeri recettoriali	30
1.7 - Meccanismi di dimerizzazione recettoriale.....	35
1.8 - Sistema dopaminergico: patologie e farmaci	38
1.9 - La schizofrenia	40
1.9.1 - Epidemiologia, fattori di rischio e clinica	40
1.9.2 - Basi biologiche	42
1.9.3 - Studi sulle ipotesi neurotrasmettitoriali	43
1.9.4 - Il trattamento della schizofrenia	45
2 - MATERIALI E METODI	47
2.1 - Materiali	47
2.2 - Costrutti plasmidici.....	48
2.3 - Colture cellulari	49
2.4 - Transfezione	50
2.4.1 - Transfezione transiente delle cellule COS-7	51
2.4.2 - Transfezione stabile delle cellule CHO.....	52
2.5 - Metodica per gli studi di binding dei recettori	53
2.6 - Binding con [³⁵ S]GTPγS	54
2.7 - Tecnica del western blot	55
2.7.1 - Studi delle proprietà antagoniste dell'S33138 sui recettori D _{3h} e D _{2Lh} tramite western blotting.....	56
2.8 - Saggio dell'adenilato ciclasi.....	57
2.8.1 - Protocollo del saggio di adenilato ciclasi.....	58
2.8.2 - Caricamento su colonna	59
2.8.3 - Valutazione dell'attività antagoniste dell'S33138 sui recettori D _{3h} , D _{2Lh} , D ₃ /D _{2Lh} e D _{3i3} (D ₂) tramite saggio funzionale.	60
2.9 - Statistica	61

3 - RISULTATI.....	63
3.1 - Profilo di binding di S33138 sui sottotipi recettoriali dopaminergici D ₂ -like.	63
3.2 - Profilo di binding di S33138 e di altri agenti antipsicotici sui recettori D ₃ h, D _{2L} h e D _{2Sh}	64
3.3 - Proprietà antagoniste di S33138 sui recettori D ₃ h, D _{2L} h tramite saggio di binding con [³⁵ S]-GTPγS.	65
3.4 - Proprietà antagoniste di S33138 sui recettori D ₃ h e D _{2L} h: rilevazione della fosforilazione di MAP chinasi tramite Western Blotting	68
3.5 - Proprietà antagoniste di S33138 sui recettori D ₃ h e D _{2L} h, sui recettori co-transfettati D ₃ h e D _{2L} h, e sui recettori D _{3i3(D2)} : studi enzimatici dell'attività dello adenilato ciclastasi.....	71
4 - DISCUSSIONI.....	74
4.1 - Antagonismo preferenziale dell'S33138 sui recettori D ₃ h rispetto ai recettori D _{2L} h e D _{2Sh}	74
4.2 - Antagonismo dell'S33138 sui recettori co-transfettati D ₃ h e D _{2L} h.....	76
5 - CONCLUSIONI.....	78
6 - BIBLIOGRAFIA	79

ABBREVIAZIONI

AC	Adenilato ciclastasi
AR	Adrenorecettori
CHO	Chinese Hamster Ovary
COS-7	Fibroblasti di rene di Scimmia
DA	Dopamina
EPS	Sintomi motori extrapiramidali
ERK	Chinasi extracellulare regolata
[³⁵S]-GTPγS	Guanosina-5'-O-(3-[³⁵ S]tio)-trifosfato
GDP	Guanosina difosfato
h	Umano
MAP	Proteina mitogena attivata
NA	Noradrenalina
cAMP	AMP ciclico
GPCRs	Recettori accoppiati alle proteine G
SNC	Sistema Nervoso Centrale
SNP	Sistema Nervoso Periferico
FBS	Siero fetale bovino
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
rpm	Revolutions per minute
PK	Protein chinasi